

Desenvolvimento e validação de um método para a determinação simultânea de esteróides sexuais em extratos fecais de onça-pintada

Elisabete A. Pereira^{1*} (PQ), Claudinei A. da Silva (PG)² Marina F. M. Tavares² (PQ), Flaviana L. G. Leite³ (PG) e Cláudio A. Oliveira (PQ) * bethcrist@yahoo.com.br

¹ Universidade Federal de São Carlos , Campus de Sorocaba

² Instituto de Química, Universidade de São Paulo, C.P. 26077, CEP 05599-970, São Paulo, SP

³ Departamento de Reprodução Animal, FMV, Universidade de São Paulo, CEP 05599-970, São Paulo, SP

Palavras Chave: cromatografia eletrocínética micelar, esteróides sexuais, extração

Introdução

Algumas espécies e subespécies de felinos brasileiros estão ameaçados de extinção em virtude da destruição acentuada de seus *habitats*, caça predatória e comércio ilegal [1]. Os felinos são animais que ocupam o topo da cadeia alimentar, sendo por isso importantes para manter o equilíbrio dos ecossistemas onde ocorrem.

Considerando a importância dos felinos neotropicais no ecossistema e a carência de informações em sua morfologia reprodutiva, as informações colhidas das características hormonais destas espécies colaboram para o êxito do uso das técnicas em reprodução assistida (inseminação artificial, fecundação *in vitro*, transferência de embriões) [2].

A eletroforese capilar é uma técnica com grande potencial para a separação de uma grande variedade de compostos, incluindo os esteróides.

Este trabalho descreve um método prático, sua otimização e validação para a determinação simultânea de diferentes esteróides em amostras fecais.

Resultados e Discussão

Parâmetros analíticos que afetam a separação como composição e concentração do eletrólito, proporção de solvente orgânico, bem como os parâmetros instrumentais como tempo de injeção, tensão aplicada e temperatura foram investigados. Estudos de otimização foram feitos utilizando uma mistura contendo 25 µg mL⁻¹, de cada hormônio, sendo que etinilestradiol e medroxiprogesterona foram utilizados como padrão interno. Para a análise dos extratos fecais, diferentes procedimentos de extração foram avaliados utilizando diversas composições de solventes (etanol, diclorometano/metanol, acetonitrila e etanol/acetonitrila) e extração em fase sólida (SPE). Os melhores resultados foram obtidos usando a extração com acetonitrila associada a SPE (cartuchos de C₁₈). As Figuras 1 A e 1B apresentam os resultados obtidos sob condições otimizadas.

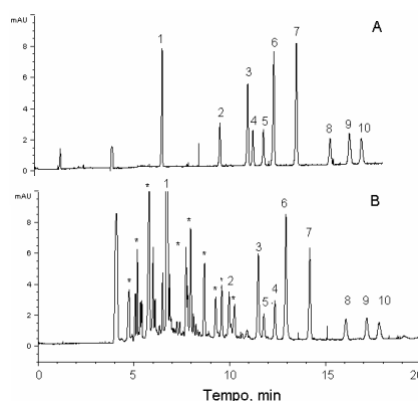


Figura 1. Eletroferograma de uma mistura padrão de esteróides. Capilar de 75 µm d.i. x 48,5 cm comprimento total (40 cm até o detector); 22 kV; 3 s x 50 mbar; 22°C; 214 nm. A. padrão; B. amostra fortificada com padrões. Eletrólito: 30 mmol L⁻¹ SDS, 10 mmol L⁻¹ tetraborato, 10% acetonitrila e 10% etanol. Identificação: 1 .Estríol, 2. 11-β-hidroxiprogesterona, 3. estrona, 4 .testosterona, 5. 17-β-hidroxiprogesterona, 6. estradiol, 7. etinilestradiol, 8. 21-β-hidroxiprogesterona, 9. progesterona, 10. medroxiprogesterona, * não identificado.

O método apresentou boa linearidade na faixa de concentrações estudadas ($r > 0.997$). A precisão, expressa como desvio padrão relativo (RSD), foi inferior a 2,5% para as medidas de área relativa. Os valores de recuperação obtidos, para dois níveis de concentração dos hormônios, foram superior a 90 %. Os limites de detecção variaram de 0,43 - 0,56 µg mL⁻¹.

Conclusões

O método proposto mostrou boa linearidade, precisão e exatidão. Com base nas características de desempenho, o método proposto pode ser aplicado para a análise de hormônios em amostras fecais de felinos.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq, CAPES.

¹ Soulé, M.; Gilpin, M.; Conway, W.; Foose, T.; *Zoo Biology*, **1986**, 5, 101.

² <http://www.felbras.hpg.ig.com.br/felinossilvestes.htm>.